

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUANA CAROLINE PETTER

ANÁLISE DE BANDAS OLIGOCLONAIS NO LÍQUIDO CEREbroSPINAL
DE PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE ESCLEROSE MULTÍPLA

Curitiba
2013

LUANA CAROLINE PETTER

ANÁLISE DE BANDAS OLIGOCLONAIS NO LÍQUIDO CEREBROSPINAL
DE PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE ESCLEROSE MÚLTIPLA

Trabalho apresentado como requisito parcial para
aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão do
Curso de graduação em Biomedicina, Setor de
Ciências Biológicas da Universidade Federal do
Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Murilo Sousa de Meneses
Co-orientadora: Profa. Dra. Djanira Aparecida da Luz
Veronez

Curitiba
2013

RESUMO

A esclerose múltipla é uma doença neurológica relativamente prevalente na comunidade e seu diagnóstico puramente clínico pode ser difícil uma vez que alguns sintomas são compartilhados por outras patologias do sistema nervoso central. A presença no líquido cefalorraquidiano de bandas oligoclonais constitui uma ferramenta de análise bastante importante no auxílio ao diagnóstico da esclerose múltipla embora exista uma grande variação na frequência em que aparecem nestes pacientes. Neste trabalho foi analisada a presença de bandas oligoclonais em um grupo de 50 pacientes do Instituto de Neurologia de Curitiba submetidos ao exame de eletroforese por focalização isoelétrica do líquido cefalorraquidiano. A frequência da presença das bandas oligoclonais entre os 29 pacientes que apresentavam diagnóstico de esclerose múltipla foi de 48%. Os dados apresentados mostram que a presença de bandas oligoclonais, embora não específica, pode contribuir para o diagnóstico da esclerose múltipla.

Palavras Chave: Esclerose múltipla. Líquido cefalorraquidiano. Bandas oligoclonais. Diagnóstico

ABSTRACT

The Multiple Sclerosis is one relatively prevalent neurologic disease in the community and its clinic diagnosis is difficult because its symptoms are shared by other diseases of the central nervous system. The presence of oligoclonal bands in the cerebrospinal fluid is a very important analysis tool in helping the multiple sclerosis diagnosis although there is wide variation in the frequency in which they appear in these patients. In this work, we analyzed the presence of these bands in a group of 50 patients of the Neurological Institute of Curitiba that had their cerebrospinal fluid submitted to isoelectric focusing. The frequency of the presence of oligoclonal bands among the 29 patients with diagnosis of multiple sclerosis was 48%. The data showed that the presence of oligoclonal bands, although not specify, may contribute to the diagnosis of multiple sclerosis.

Keywords: Multiple Sclerosis. Cerebrospinal fluid. Oligoclonal bands. Diagnosis.

LISTA DE ABREVIATURAS

EM – Esclerose Múltipla

LCR – Líquido Cerebrospinal

SNC – Sistema Nervoso Central

SCI – Síndrome Clínica Isolada

PC – Plexo Coróide

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

BOC – Bandas Oligoclonais

IgG – Imunoglobulina G

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	8
3 LÍQUIDO CEREbroSPINAL	9
4 ESCLEROSE MÚTIPLA	11
4.1 DIAGNÓSTICO.....	12
4.1.1 Líquido cerebrospinal no diagnóstico da Esclerose Múltipla.....	13
4.1.1.1 Índice de IgG.....	13
4.1.1.2 Presença de BOC no LCR.....	14
5 MÉTODOS.....	15
5.1 MÉTODO DE REALIZAÇÃO DE PESQUISA DE BOC.....	16
6 RESULTADOS.....	17
7 DISCUSSÃO.....	20
8 CONCLUSÃO.....	21
REFERÊNCIAS.....	22

1 INTRODUÇÃO

Acredita-se que a primeira descrição da Esclerose Múltipla (EM) tenha ocorrido no século XIX, quando Robert Carswell e Jean Cruveilhier observaram a presença de placas brancas e marrons no SNC de cadáveres durante a autópsia, mas as primeiras descrições clínicas e anatômicas publicadas da doença foram feitas por Jean-Martin Charcot e Edmé Felix Alfred Vulpian na década de 1880 (BOGOUSSLAWSKY, 2011).

A EM caracteriza-se por ser uma doença neurológica degenerativa e inflamatória na qual ocorre desmielinização dos neurônios do sistema nervoso central. Esse quadro de desmielinização provoca alterações na comunicação entre os neurônios, podendo causar um vasto número de sintomas que variam de paciente para paciente (OLIVEIRA, 1998).

O diagnóstico da EM é realizado com base no quadro clínico do paciente em conjunto com testes paraclínicos de acordo com os critérios de Polmann 2010 (GAMA, 2009). A utilização de todas as ferramentas disponíveis é importante, uma vez que assim, pode-se chegar a um diagnóstico mais confiável e em estágios mais precoces da doença.

O líquido cefalorraquidiano (LCR), líquido ou ainda líquido cerebrospinal é um fluido presente no interior do sistema ventricular, bem como em todo o espaço subaracnóideo, envolvendo o Sistema Nervoso Central (SNC). A composição do LCR é semelhante à do plasma mas, pela proximidade que tem com o tecido nervoso, ela pode apresentar-se alterada quando patologias acometem esta região. Desta forma, a análise do LCR, em especial da sua composição proteica e da celularidade, pode auxiliar no diagnóstico de processos patológicos no SNC (JOHANSON, 2008).

A EM é uma das doenças cujo diagnóstico pode ser corroborado através das alterações presentes na análise do LCR sendo o principal parâmetro utilizado durante sua análise a pesquisa de Bandas Oligoclonais (BOC) que podem indicar a produção intratecal de imunoglobulinas participantes do processo inflamatório envolvido na doença (GAMA, 2009).

2 OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

-Relatar a frequência das BOC no LCR em pacientes com EM do Instituto de Neurologia de Curitiba no período de 01 de julho de 2011 a 31 de julho de 2013.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o resultado da pesquisa de BOC nos pacientes portadores de EM;
- Fazer o levantamento das demais patologias para as quais os pacientes apresentaram pesquisa para BOC positivas;
- Relatar a frequência dos pacientes com EM submetidos à pesquisa de BOC que obtiveram índices elevados de IgG intratecal.

3 LÍQUIDO CEREBROSPINAL

O LCR é uma substância aquosa, incolor e estéril de aspecto límpido que ocupa o interior das cavidades ventriculares bem como o espaço subaracnóideo envolvendo todo o SNC (MACHADO, 2005). Ele é produzido em estruturas denominadas Plexos Coróides (PC), que no adulto pesam aproximadamente um total de 2 gramas e consistem em uma membrana epitelial presente no interior dos ventrículos cerebrais. Cada PC é formado por uma monocamada de células colunares situadas em um núcleo de tecido conjuntivo (DAMKIER, 2010). Essas estruturas são formadas pela invaginação do epêndima para o interior dos ventrículos provocada pelos vasos da pia-máter (MAFAZZONI, 1986) como mostra a figura 01. Os PC são responsáveis por secretar água e solutos, além de mediadores humorais e nutrientes que são necessários para o funcionamento adequado do SNC (DAMKIER, 2010).

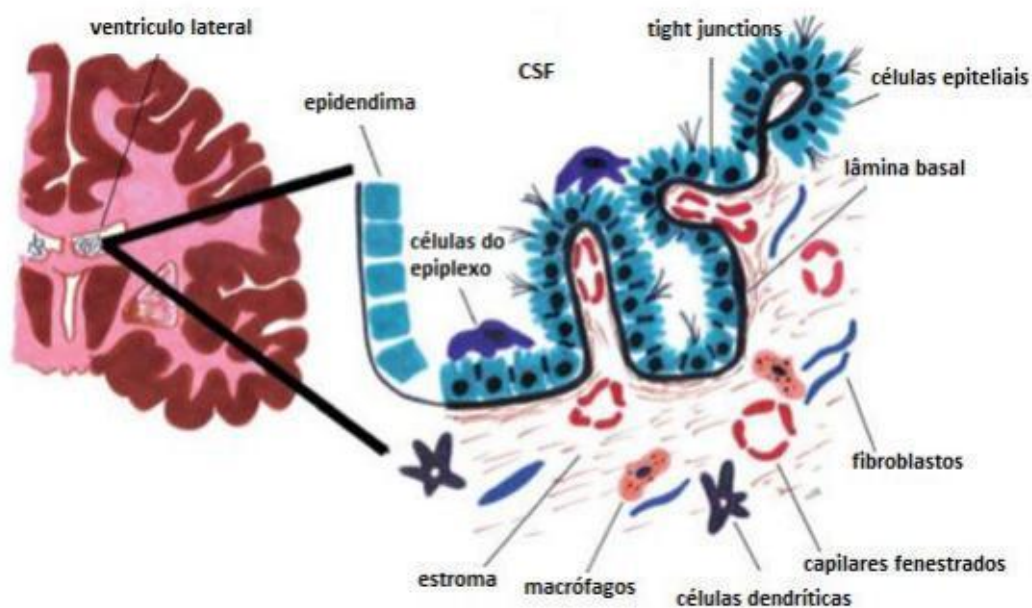


Figura 01: Representação morfológica e histológica do plexo coróide do ventrículo lateral. FONTE: Emerich (2005).

Os PC contribuem com a produção da maior quantidade de líquido no SNC, sendo responsáveis por aproximadamente dois terços de todo o LCR produzido. A maior produção ocorre no interior dos ventrículos laterais presentes nos hemisférios cerebrais, havendo contribuição também dos III e IV ventrículos. A formação do LCR compreende 2 processos distintos sendo o primeiro um processo de filtração passiva do sangue pelo endotélio do PC e o segundo compreendendo um processo de secreção ativa de moléculas pelo epitélio, processo este modulado pelos sistemas neuroendócrino e hormonal (JOHANSON, 2008).

Além de suas funções relacionadas a nutrição e retirada de metabólitos do SNC, o LCR atua de modo a proteger o SNC sendo importante na absorção de possíveis impactos. Além destas funções bem caracterizadas, estudos recentes tem mostrado a contribuição do LCR no desenvolvimento, homeostase e reparo do tecido nervoso (REDZIC , 2005).

Devido ao contato direto existente entre o tecido nervoso e o LCR, este pode muitas vezes apresentar alterações em sua composição provenientes de processos patológicos presentes no SNC. Desta forma a coleta do LCR e sua utilização para fins de diagnóstico tem sido amplamente utilizados para doenças infecciosas, inflamatórias e neoplásicas. A composição proteica do LCR pode ser um parâmetro importante a ser avaliado, uma vez que estima-se que em torno de 20% das proteínas presentes em sua composição são derivadas do tecido nervoso podendo, desta forma, funcionar como marcador para diferentes patologias (HOLTITA, 2012).

4 ESCLEROSE MÚLTIPLA

A esclerose múltipla é uma doença degenerativa que acomete o sistema nervoso central caracterizando-se por um processo inflamatório de origem auto imune que promove a desmielinização das fibras e causa, desta forma, uma transmissão prejudicada dos impulsos nervosos (OLIVEIRA, 1998).

A primeira manifestação da doença pode se dar por uma Síndrome Clínica Isolada (SCI), na qual ocorre a primeira manifestação clínica causada pela desmielinização do sistema nervoso (MARCUS, 2012). Os sintomas clínicos da SCI podem incluir neurite óptica, síndrome cerebelar e tronco cerebral além de síndrome medular assim como disfunção cerebral hemisférica (MARCUS, 2012).

As lesões causadas pela EM aparecem, nos achados anatomopatológicos, como placas múltiplas, de coloração cinza-acastanhada brilhante possuindo formato irregular. O curso natural da doença varia de paciente para paciente sendo que na maior parte dos casos a doença tem início com episódios de déficits neurológicos que são reversíveis progredindo com deterioração neurológica responsável pela piora dos sintomas associados (GOLDEMBERG, 2012).

Os pacientes portadores de EM podem ser enquadrados em três diferentes categorias de acordo com o comprometimento que apresentam por ação da doença:

- Esclerose Múltipla Remitente Recorrente – É a forma mais comum da doença e caracteriza-se por episódios de surto nos quais o paciente apresenta exacerbação dos sintomas seguidos por períodos de remissão onde estes praticamente desaparecem (GOLDEMBERG, 2012).
- Esclerose Múltipla Secundariamente Progressiva – Progressão da esclerose surto remissão, na qual ocorre piora progressiva do curso da doença. O paciente apresenta aumento das incapacidades podendo haver ou não períodos de remissão (GOLDEMBERG, 2012).

- Esclerose Múltipla Primariamente Progressiva – O paciente apresenta aumento progressivo das limitações, sem que haja surtos e remissões (GOLDEMBERG, 2012).
- Esclerose Múltipla Progressiva com Surtos – Ocorre progressão desde o início da doença não havendo períodos de remissão. O paciente apresenta crises onde há agravamento dos sintomas (GOLDEMBERG, 2012).

A esclerose remitente recorrente é mais comum em adultos jovens com predomínio de sintomas neurológicos transitórios, sendo este o curso presente em 85% dos casos da doença. Nas formas de esclerose progressiva, nas quais os sintomas se intensificam com o passar do tempo, a doença pode surgir em qualquer idade sendo que as mulheres são duas vezes mais afetadas que os homens na população de um modo geral (ROBBINS, 2010).

A EM é uma doença que possui etiologia em fatores genéticos e ambientais e suas lesões são devidas a uma resposta imune dirigida contra os componentes da bainha de mielina presente no SNC. Pela capacidade de induzir lesões em várias áreas do SNC, a EM pode produzir uma grande variedade de sinais clínicos, no entanto, alguns padrões destes sintomas podem ser reconhecidos e auxiliar o diagnóstico correto dessa patologia (MOREIRA, 2000). A desmielinização na EM ocorre predominantemente no nervo óptico, medula cervical, tronco cerebral e substância branca periventricular (OLIVEIRA, 1998). Lesões que acometem o nervo óptico tem por consequência a prejuízo visual para o paciente, assim como as lesões presentes no tronco encefálico podem produzir sintomas relacionados aos nervos cranianos, ataxia, nistagmo e oftalmoplegia. As lesões presentes na medula espinhal são responsáveis pelo prejuízo motor, à sensibilidade dos membros e do tronco, à espasticidade e à dificuldade no controle voluntário da função visceral.

4.1 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da EM atualmente se faz por meio do exame clínico sendo auxiliado por exames complementares (POLMAN, 2011). A anamnese é utilizada

para a caracterização dos surtos e o exame neurológico é usado para fazer as devidas conexões entre as regiões lesadas e os surtos. Para ter o diagnóstico de EM é necessário que o paciente tenha apresentado ao menos um surto e que os sinais neurológicos evidenciados sejam provenientes de pelo menos duas lesões distintas em diferentes níveis topográficos da substância branca. Para que o diagnóstico da EM seja realizado se faz necessária a comprovação da disseminação das lesões no espaço e no tempo bem como é preciso que seja realizada a exclusão de diagnósticos alternativos (POLMAN, 2011).

4.1.1 Líquido cefalorraquidiano no diagnóstico da Esclerose Múltipla

Os parâmetros que são analisados no LCR para diagnóstico da esclerose múltipla assim como os métodos que são empregados com esta finalidade variam amplamente, de modo que o exame pode apresentar variações nos resultados (FREEDMAN, 2005). A pesquisa no líquido de BOC, bem como o índice de IgG são os marcadores mais utilizados para auxílio no diagnóstico da EM (GREENE, 2010).

4.1.1.1 Índice de IgG

A análise de IgG no LCR pode indicar a presença de alterações no SNC, funcionando como indicador de inflamações. No entanto, para que esta análise esteja correta é necessário que seja feita uma correlação entre o quociente de albumina e o quociente de IgG, o chamado índice de IgG (GAMA, 2009).

A análise quantitativa da albumina pode ser utilizada para a avaliação da função da barreira hematoencefálica, pois como esta proteína não é produzida ou catabolizada no SNC ela pode ser usada como indicador de permeabilidade. A comparação da concentração de albumina no LCR, quando comparada com a albumina plasmática, pode fornecer o quociente desta proteína que é utilizado posteriormente para o cálculo do índice de IgG (GAMA, 2009).

Calculo do índice IgG:

Índice de IgG = Quociente IgG / Quociente Albumina

Sendo o valor de referência igual à <0,8

4.1.1.2 Presença de BOC no líquido cerebrospinal

Durante o curso da doença, linfócitos B que se encontram presentes em áreas próximas àquelas onde ocorre desmielinização, são responsáveis pela produção da imunoglobulina G. A presença de duas ou mais BOC, que se deve ao aumento da produção de imunoglobulinas, no LCR de pacientes que não apresentem correspondente no soro são indicativas de processo inflamatório no SNC (SOHLER, 2012). A análise de BOC consiste na comparação entre as bandas provenientes do soro e do LCR do paciente (RAMMOHAN, 2009); Existe uma estreita relação entre estes dois componentes uma vez que o plasma contribui para a formação do LCR (WOOD, 1980), embora as concentrações dos elementos sejam bastante distintas entre estes dois fluidos o padrão do perfil de bandas esperado deve ser semelhante. Esta análise é realizada porque pacientes acometidos pela EM apresentam características distintas de bandas de proteínas quando sangue e LCR são comparados.

O uso de BOC para auxílio no diagnóstico da EM possui alta sensibilidade (>90%) mas, sua especificidade é reduzida (aproximadamente 35%) em consequência das diversas desordens inflamatórias que podem acometer o SNC e dificultar o reconhecimento da patologia (KATSAVOS, 2013).

Para que o diagnóstico diferencial seja alcançado é necessário que além da pesquisa por BOC e a avaliação do índice de IgG os demais parâmetros do LCR sejam analisados, afastando-se assim outras causas que podem se confundir com a EM como outras inflamações crônicas por exemplo (FREEDMAN, 2005). A contagem das células brancas e vermelhas no líquido bem como o conhecimento da concentração proteica e níveis de glicose e de lactato são importantes para em conjunto auxiliar o profissional no correto diagnóstico (FREEDMAN, 2005).

5. MÉTODOS

Foram analisados os resultados do LCR de 50 pacientes a partir do banco de dados do Laboratório de Análises Clínicas das Nações. A busca foi realizada para todos os pacientes com solicitação de análise de BOC no LCR entre o período de 01 de julho de 2011 e 31 de julho de 2013, sendo estes, pacientes internados, em acompanhamento ambulatorial ou ainda do pronto atendimento do Instituto de Neurologia de Curitiba.

Os dados coletados foram categorizados em três grupos distintos:

- Grupo 01 - Pacientes com diagnóstico de EM, com resultado positivo ou negativo para a pesquisa de BOC;
- Grupo 02 - Pacientes com diagnóstico alternativo a EM e com pesquisa positiva para BOC;
- Grupo 03 - Pacientes que não apresentavam diagnóstico de EM e apresentaram pesquisa para BOC negativa.

Os pacientes do grupo 01, aqueles com diagnóstico confirmado de EM, foram avaliados quanto à presença ou ausência de BOC no exame por focalização isoelétrica.

Os pacientes do grupo 02, com diagnóstico alternativo a EM, que apresentaram resultado positivo para pesquisa de BOC foram agrupados de acordo com a patologia para a qual foram diagnosticados.

Os pacientes do grupo 03, que não possuíam diagnóstico de EM e obtiveram resultado negativo para a pesquisa de BOC foram desconsiderados e não contribuíram para os resultados apresentados por este trabalho.

Posteriormente foi realizada a estimativa da frequência da presença das bandas oligoclonais bem como do índice elevado de IgG nos pacientes pertencentes ao grupo 01.

5.1 MÉTODO DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA DE BOC

Para que a análise seja realizada, são coletados LCR e sangue do paciente. Em seguida é realizada a eletroforese por focalização isoeletrica com estas amostras objetivando-se obter o seu perfil proteico, para que sejam comparadas. As bandas distintas entre as duas amostras são BOC que indicam a presença de síntese intratecal de anticorpos.

6. RESULTADOS

Os 50 pacientes cujos exames foram analisados, foram divididos em 3 grupos distintos como indica o gráfico 01, sendo que 11 destes, os pertencentes ao grupo 03, foram posteriormente desconsiderados por não apresentarem dados relevantes para este trabalho. No grupo 01 foram situados 29 pacientes que apresentaram diagnóstico confirmado para EM com pesquisa positiva ou não para BOC no LCR, e o grupo 02 foi composto de 10 pacientes que embora não tivessem diagnóstico de EM obtiveram resultado positivo para esta pesquisa.

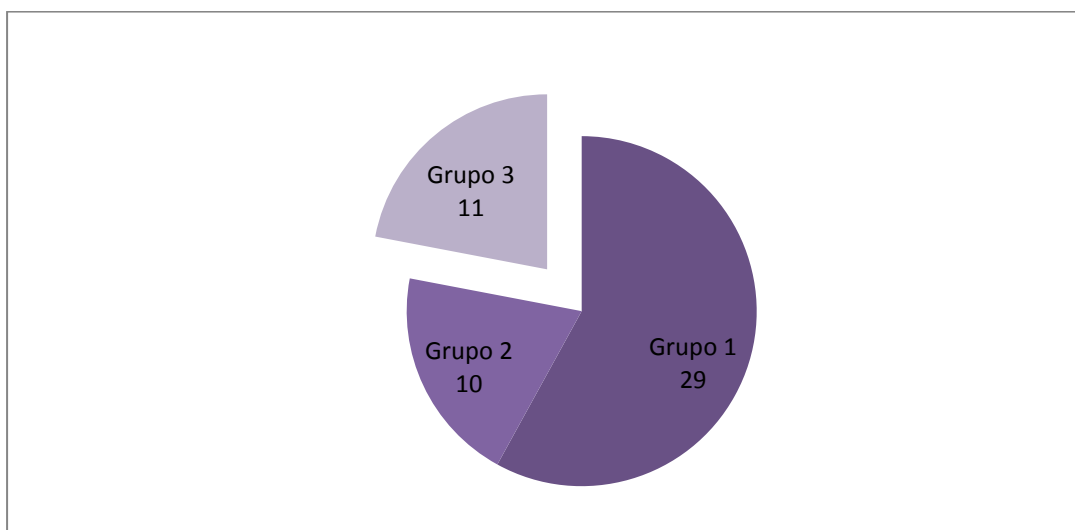


Gráfico 01 – Divisão dos pacientes que realizaram a pesquisa de bandas oligoclonais.

O grupo 01, composto por pacientes que possuíam diagnóstico confirmado de EM foi posteriormente analisado com relação ao resultado obtido na pesquisa de BOC no LCR para relato da frequência destas mesmas bandas. Dos 29 pacientes deste grupo 14 apresentaram exame de focalização isoeletrica positivo para as BOC, enquanto 15 obtiveram resultado negativo para este mesmo exame como mostrado no gráfico 02.

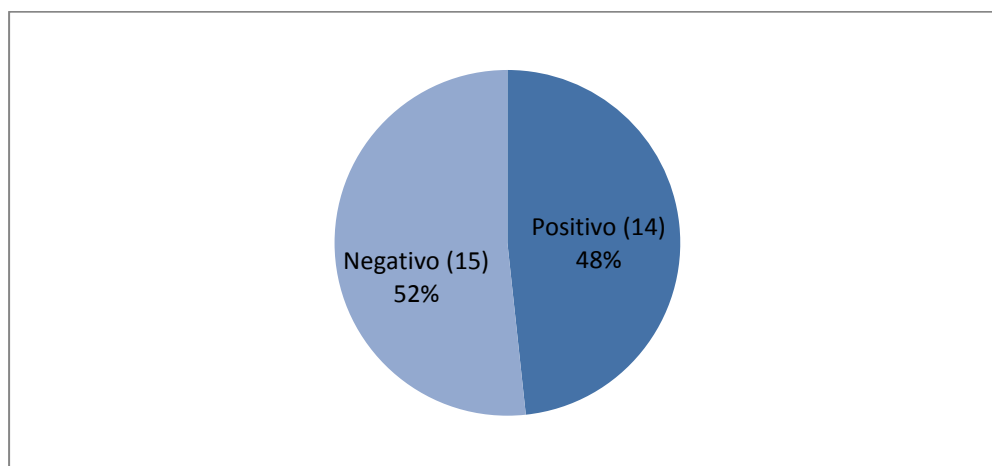


Gráfico 02: Porcentagens referentes à presença e ausência de bandas oligoclonais em pacientes do Instituto de Neurologia de Curitiba com diagnóstico de Esclerose Múltipla submetidos à exame de focalização isoelétrica entre 01 de julho de 2011 e 31 de julho de 2013.

O grupo 2, formado por pacientes que apresentaram resultado positivo para BOC e que não apresentavam diagnóstico de EM mas sim de outras patologias foi composto por 10 indivíduos que foram classificados posteriormente de acordo com seu diagnóstico como representado na tabela 01. Dos 10 pacientes em questão 5 não tiveram diagnóstico definido, 1 teve diagnóstico de encefalite, 1 de cefaleia, 1 com doença degenerativa que não EM e 2 com neurite.

Diagnóstico alternativo à EM com presença de BOC	Número de pacientes
Encefalite	1
Cefaleia	1
Doença Degenerativa que não EM	1
Neurite	2
Sem diagnóstico definido	5

Tabela 01: Pacientes com pesquisa de bandas oligoclonais positiva com diagnóstico alternativo à Esclerose Múltipla.

O exame de focalização isoelétrica para pesquisa de bandas oligoclonais no LCR é também composto pelo índice de imunoglobulina G (IgG) de maneira que os pacientes submetidos ao exame de BOC tiveram também esse parâmetro analisado. O índice de IgG se mostrou elevado em 15 dos 50 pacientes estudados sendo que

7 destes receberam diagnóstico de EM (pacientes pertencentes ao grupo 01). A tabela 02 mostra a porcentagem dos pacientes que apresentaram índice elevado de IgG que receberam diagnóstico de EM.

Total de pacientes analisados	Pacientes que apresentaram Índice de IgG elevado (dentre os 50 analisados)	Pacientes que receberam diagnóstico de EM (dentre os 15 com IgG elevado)	Porcentagem de pacientes com IgG elevado que receberam diagnóstico de EM
50	15	7	46%

Tabela 02: Frequência de pacientes com EM que apresentaram índice elevado de IgG.

Os pacientes que receberam diagnóstico de EM foram então avaliados quanto a frequência em que apresentavam os parâmetros líquóricos analisados por este trabalho, como mostrado na tabela 03.

	Pacientes com diagnóstico de EM	Porcentagem de pacientes com EM
Com presença de bandas oligoclonais	14	48%
Com Índice elevado de IgG	7	24%
Com presença de bandas oligoclonais e índice elevado de IgG	6	20%

Tabela 03: Frequência da presença de bandas oligoclonais, índice elevado de IgG e da associação dos dois fatores em pacientes com diagnóstico de EM.

7. DISCUSSÃO

O diagnóstico da EM atualmente é realizado levando-se em consideração principalmente a evolução clínica da doença, mas por tratar-se de uma doença que acomete diferentes regiões do SNC esta evolução na maioria das vezes não segue um padrão, de forma que testes paraclínicos são indispensáveis para se alcançar o diagnóstico diferencial. O LCR pode oferecer informações importantes sobre o quadro do paciente, mas para que estas informações sejam úteis é necessário que sua análise bem como sua interpretação sejam realizadas de maneira integrada e adequada. A presença das BOC bem como de índices elevados de IgG no LCR são compatíveis com a presença de inflamação no SNC, mas não são específicos da EM. Dessa forma, a análise do LCR como teste paraclínico deve ser realizado, de maneira a auxiliar o profissional da saúde, que deve buscar sempre minimizar a probabilidade de erros diagnósticos, utilizando todas as ferramentas disponíveis e interpretando-as da melhor maneira possível.

Os resultados obtidos mostram que a análise exclusiva da presença de BOC no LCR assim como dos índices de IgG, como descrito anteriormente na literatura não são suficientes para o fechamento de um diagnóstico. Porém, a interpretação correta dos resultados pode sim fornecer informações relevantes sobre o quadro do paciente.

8. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse trabalho permitiram concluir que a frequência das BOC no LCR em pacientes com EM do Instituto de Neurologia de Curitiba que foram submetidos ao exame focalização isoeletrica no período de 01 de julho de 2011 a 31 de julho de 2013 foi de 48% e dentre estes mesmos pacientes, 24% apresentavam índices elevados de IgG.

Além daqueles portadores de EM, pacientes com diagnóstico de encefalite, cefaleia, doença degenerativa que não EM e neurite apresentaram pesquisa para BOC positivas evidenciando que estas estão presentes em processos inflamatórios e não constituem portanto, um marcador específico.

REFERÊNCIAS

BOGOUSSLAVSKY, J.; WALUSINSKI, O.; MOULIN, T. Alfred Vulpian and Jean-Martin Charcot in Each Other's Shadow? From Castor and Pollux at La Salpêtrière to Neurology Forever, **European Neurology**, v.65, p.215–222, 2011.

DAMKIER, H. H.; BROWN, P. D.; PRAETORIUS, J. Epithelial Pathways in Choroid Plexus Electrolyte Transport. **Physiology**. v.25. p.239-249. 2010.

EMERICH, D. F.; *et al.* The choroid plexus in the rise, fall and repair of the brain. **Bioessays**. v.27. p.262-274. 2005.

FREEDMAN, M. S. *et al.* Recommended Standard of Cerebrospinal Fluid Analysis in the Diagnosis of Multiple Sclerosis. **Arch Neurol**. v.62. p. 865–870. 2005.

GAMA, P. D. **Estudo de bandas oligoclonais restritas ao líquido cerebroorraquidiano em pacientes com esclerose múltipla na cidade de São Paulo**. 147f. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Neurologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

GOLDENBERG, M. M. Multiple Sclerosis Review. **P&T** v.37. p. 175-184. 2012. McDonald Criteria. **Annals of Neurology**. v.69. p.292–302. 2011.

GREENE, D. N. *et al.* Cerebrospinal Fluid Myelin Basic Protein Is Frequently Ordered but Has Little Value. **Am J Clin Pathol**. v.138. p.262-272. 2012.

HOLTITA, M. *et al.* Peptidome Analysis of Cerebrospinal Fluid by LC-MALDI MS. **Plos one**. v.7. 2012.

KATSAVOS, S.; ANAGNOSTOULI, M. Biomarkers in Multiple Sclerosis: An Up-to-Date Overview. **Multiple Sclerosis International**. v. 2013. 2013.

JOHANSON, C. E. *et al.* Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease. **Biomed Central**. v.5. p.1-32. 2008.

MACHADO, Â. B.M. **Neuroanatomia Funcional**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005.

MAFFAZZONI, D. R.; COUTINHO, L. M. B. Plexos Coroides: Estudo Histopatológico em Diferentes Faixas Etárias. **Arq. Neuropsiquiatria**. São Paulo. v.44. p. 341-350. 1986.

MARCUS, J. F.; WAUBANT, E. L. Updates on Clinically Isolated Syndrome and Diagnostic Criteria for Multiple Eclerosis. **The Neurohospitalist** v.3. p. 65-80. 2012.

MOREIRA, M. *et al.* A.,Esclerose múltipla Estudo descritivo de suas formas em 302 casos. **Arq Neuropsiquiatria**. v.58. p.460-466. 2000.

OLIVEIRA, E. M. L.; SOUZA, N. A. Esclerose Múltipla. **Rev. Neurociências** v.6. p.114-118. 1998.

POLMAN, C. H. *et al.* Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald Criteria. **Annals of Neurology**. v.69. p.292–302. 2011.

RAMMOHAN, K. W. Cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. **Annals of Indian Academy of Neurology**. v.12. p. 246–253. 2009.

REDZIC, Z. B. *et al.* The Choroid Plexus-Cerebrospinal Fluid System: From Development to Aging. **Current Topics in Developmental Biology**. v.71, 2005.

ROBBINS, J. A. **Robbins e Cotran Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

SOHLER, M. P. *et al.* Esclerose Múltipla Correlação clínico-laboratorial. **Arq Neuropsiquiatr**. v.59. p.89-91. 2001.

WOOD, J.H. *et al.* Neurochemical analysis of cerebrospinal fluid. **Neurology**. v.30. p.645-651. 1980.